BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood • BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood

APPLICATION

La **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** (gélose de Bordet Gengou avec 15 % de sang de mouton) et la **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood** (gélose Bordetella contenant du charbon de bois et 7 % de sang de cheval) sont des milieux sélectifs servant à l'isolement de *Bordetella pertussis* et de *B. parapertussis*.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Toutes les espèces *Bordetella* sont des agents pathogènes des voies respiratoires résidant dans les cellules épithéliales ciliées de l'appareil respiratoire. *B. pertussis* et *B. parapertussis* sont des agents pathogènes connus uniquement chez l'humain. *B. pertussis* est la principale cause de coqueluche. *B. parapertussis* est associée à une forme bénigne de cette maladie. *B. bronchiseptica* est principalement un agent zoopathogène mais peut toutefois générer des bronchites, des pneumonies et des infections des voies extra-respiratoires chez l'humain.

La base de gélose de Bordet Gengou est une modification du milieu décrit à l'origine par Bordet et Gengou pour la culture de *Bordetella pertussi*s.[1] La **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** est préparée selon une formule modifiée recommandée par l'association de santé publique américaine (American Public Health Association).[2] Dans ce milieu, une infusion à base de pommes de terre procure de l'azote et des vitamines. De nombreux composants sont susceptibles d'inhiber la croissance de *B. pertussi*s, notamment les acides gras présents dans les sécrétions nasales ou sur le coton de l'écouvillon de prélèvement. L'amidon, provenant de l'infusion de pommes de terre, absorbe les acides gras. Le glycérol est une source de carbone. Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique du milieu. L'ajout de 15 % de sang de mouton procure les facteurs de croissance complexes essentiels.

La **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood** est basée sur la formule de Mishulow et al., lesquels ont découvert qu'elle constituait un substitut efficace à la gélose de Bordet Gengou. [3] Ce milieu, ayant par la suite fait l'objet d'un développement plus poussé, est à présent connu sous le nom de base de gélose charbon Regan-Lowe.[4] Dans celui-ci, l'extrait de bœuf et la peptone de gélatine fournissent les éléments nutritifs. L'amidon et le charbon de bois servent quant à eux à absorber les acides gras toxiques, les radicaux et les peroxydes, remplaçant ainsi l'infusion de pommes de terre dans la gélose de Bordet Gengou. La niacine est une vitamine favorisant la croissance. Le sang de cheval fournit des facteurs de croissance complexes et diminue encore l'effet toxique des peroxydes.

De la céfalexine est ajoutée à la **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** et à la **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood**. Elle sert d'agent sélectif pour éliminer partiellement la flore bactérienne normale des voies respiratoires.[5,6]

REACTIFS

Formules* par litre d'eau purifiée

BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood		BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood	
Pommes de terre, infusion de solides	4,5 g	Extrait de bœuf	10,0 g
Digestion pancréatique de caséine	5,0	Digestion pancréatique de gélatine	10,0
Digestion peptique de tissu animal	5,0	Amidon soluble	10,0
Chlorure de sodium	5,5	Charbon de bois (activé)	4,0
Gélose	20,0	Chlorure de sodium	5,0
Céfalexine	0,04	Niacine (acide nicotinique)	0,01
Glycérol	10,0 mL	Céfalexine	0,04
Sang de mouton défibriné	15 %	Sang de cheval défibriné	7 %
pH 7,2 ± 0,2		Gélose	12,0 g
		pH 7,4 ± 0,2	

*Ajustées et/ou complémentées en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.
Ne pas utiliser les boîtes si elles présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.
Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer.
Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.
Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer les échantillons représentatifs avec les souches ci-dessous (pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Incuber en atmosphère aérobie dans une chambre humide pendant 5 à 7 jours, à une température comprise entre 35 et 37 °C. Ne pas incuber en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone.

Souches	BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood	BD Bordetella Agar + Charcoal + 7 % Horse Blood
Bordetella pertussis ATCC 9797	Croissance moyenne à importante	Croissance bonne à importante
Bordetella parapertussis ATCC 15311	Croissance moyenne à importante	Croissance bonne à importante
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	Inhibition partielle à complète	Inhibition partielle à complète
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	Inhibition partielle à complète	Inhibition partielle à complète
Non ensemencé	Rouge foncé teinté de marron, opaque	Noir brillant teinté de rouge, opaque

METHODE

Matériaux fournis

BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood ou **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood**, toutes deux fournies en boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm. Produit soumis à contrôle microbiologique.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons et prélèvement

La méthode consistant à analyser les expectorations pour diagnostiquer la coqueluche n'est plus recommandée.[7] Des sécrétions obtenues par prélèvement au niveau du rhinopharynx postérieur ou bien par lavage ou écouvillonnage rhino-pharyngien (alginate de calcium sur une poignée avec câble) doivent être recueillies au cours de la première semaine de toux paroxysmale.[3] Ne jamais utiliser d'écouvillon en coton ! Il est recommandé de procéder par aspiration pour prélever ces sécrétions. Ne jamais utiliser d'échantillon prélevé sur la gorge. Des milieux de transport spéciaux, basés sur le charbon de bois, ont été décrits. Même si des milieux de transport sont utilisés, les échantillons doivent impérativement être remis au laboratoire aussi vite que possible. Les temps de transport supérieurs à 24 h réduisent considérablement la viabilité de *Bordetella*. Pour plus d'informations, consulter les documents cités en référence.[6,8,9]

Mode opératoire du test

Ensemencer les boîtes de Pétri sans attendre, dès l'arrivée des échantillons au laboratoire, et les diluer par striation. Incuber les boîtes à l'air ambiant dans une chambre humide (p. ex. dans un récipient **BD GasPak** contenant de l'eau dans un bécher) pendant 7 à 10 jours, et les examiner chaque jour à l'aide d'une loupe. Ne pas incuber en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone car le gaz risquerait d'éliminer le microorganisme. La température d'incubation optimale est comprise entre 34 et 36 °C. Une température plus élevée risquerait de réduire le développement de *Bordetella.*[6]

Résultats

Après une durée d'incubation suffisante, les colonies de *B. pertussis* de la **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** et de la **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood** sont petites, blanches, bombées et étincelantes ; leur aspect est similaire à des perles coupées en deux. Dans la **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood**, les colonies de *B. pertussis* et de *B. parapertussis* peuvent présenter une faible bêta-hémolyse en périphérie.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** et la **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood** sont des milieux sélectifs approuvés pour l'isolement des espèces *Bordetella*, notamment *B. pertussis* et *B.* parapertussis.[6,9] Les données les plus récentes encouragent l'utilisation du milieu basé sur le charbon de bois.[6,10,11]

Ces milieux comprennent de la céfalexine, qui inhibe de nombreuses bactéries Gram positives et certaines bactéries Gram négatives présentes dans la flore normale de la gorge. Toutefois, elle n'inhibe pas complètement tous les microorganismes.[5,6]

Bordetella bronchiseptica peut se développer dans ces milieux. Il s'agit d'un pathogène opportuniste pouvant également générer des infections respiratoires.[12]

Des tests supplémentaires sont nécessaires pour l'identification complète de *Bordetella pertussis* et de *B. parapertussis*. Le test de l'immunofluorescence directe, pouvant également être utilisé en parallèle avec une culture pour la détection directe des agents à partir des échantillons, peut aussi être utilisé pour confirmer les isolats obtenus dans ces milieux.[6,8,9]

REFERENCES

1. Bordet, J., and D. Gengou. 1906. Le microbe de la coqueluche. Ann. Inst. Pasteur 20:731.
2. Kendrick, P. L., E. Eldering, and W. L. Bradford. 1970. Whooping cough. *In* H. L. Bodily, E. L. Updyke, and J. O. Mason (ed.), Diagnostic procedures for bacterial, mycotic and parasitic infections, 5th ed. American Public Health Association, New York, NY.

3. Mishulow, L., L. S. Sharpe, and L. L. Cohen. 1953. Beef-heart charcoal agar for the preparation of pertussis vaccines. Am. J. Public Health, 43:1466.
4. Regan, J., and F. Lowe. 1977. Enrichment medium for the isolation of *Bordetella.* J. Clin. Microbiol. 6: 303-309.
5. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 86-92. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. Loeffelholz, M.J. 2003. *Bordetella*. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Chievitz, J., and A. H. Meyer. 1916. Recherches sur la coqueluche. Ann. Inst. Pasteur 30:503
8. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
9. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Hoppe, J.E., and R. Vogl. 1986. Comparison of three media for culture of *Bordetella pertussis*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 5: 361-363.
11. Hoppe, J. E. 1988. Methods for isolation of *Bordetella pertussis* from patients with whooping cough. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 7: 616-620.
12. Woolfrey, B. F., and J. A. Moody. 1991. Human infections associated with *Bordetella bronchiseptica*. Clin. Microbiol. Rev. 4: 243-255.

CONDITIONNEMENT

BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood
N° réf. 254400 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités

BD Bordetella Agar with Charcoal and 7 % Horse BloodBD Bordetella Agar with Charcoal and 7 % Horse Blood
N° réf. 256054 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.

BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

BD, BD logo, Stacker and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
© 2003 Becton, Dickinson and Company